

蝗虫微孢子虫对东亚飞蝗的实验感染

王丽英 严毓骅 管致和

(北京农业大学植保系, 北京)

蝗虫微孢子虫 (*Nosema locustae* Canning) 系 Canning (1953, 1962) 从非洲飞蝗 (*Locusta migratoria migratorioides*) 体内分离并命名。Henry (1971, 1973) 用双带蚱蜢 (*Melanoplus bivittatus*) 做替代寄主增殖孢子, 用来防治草原蝗虫取得显著成效, 后来发展成为第一个商品化的微孢子杀虫剂。

1985 年我们从美国 John. S. Evans 博士处得到蝗虫微孢子虫浓缩液, 并成功地在东亚飞蝗体内增殖, 从而获得大量孢子。本文报道经东亚飞蝗体内增殖后的孢子超微形态结构, 发育过程及孢子产生等方面的观察结果。

材 料 和 方 法

一、材料

东亚飞蝗 (*Locusta migratoria manilensis*) 采自天津、郑州效区, 在养虫室内传代饲养, 室温 $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 以玉米叶掺入少量麦麸为饲料。经检查未发现有微孢子虫的健虫。将引自美国的蝗虫微孢子虫浓缩液 1×10^7 孢子/ml 稀释 1000 倍, 涂于玉米叶上, 晾干后饲喂 4—5 龄蝗蛹 (接种前饥饿 4—6 小时), 取食 24 小时后, 更换新鲜玉米叶。病虫饲养在装有 40 瓦日光灯、昼夜光照, 温度为 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 的接种室内。待蝗蛹发育至老龄或成虫期, 收集病死虫尸, 加入适量蒸馏水捣碎, 差速离心, 得沉淀孢子。将孢子再悬浮于蒸馏水中, 置于 -20°C 冰箱中保存备用。

二、形态观察

取接种 15—20 天的感病蝗蛹, 解剖取出小块感病脂肪体, 涂于盖片上, 95% 甲醇固定, Giemsa 染色, 光镜观察。将提纯的孢子稀释成 1×10^5 孢子/ml, 滴于盖片上, 用 2.5% 戊二醛固定, 经乙醇系列脱水, 喷金, SEM-500 扫描电镜观察拍片, 取感病后期脂肪组织, 用戊二醛-锇酸双固定, 环氧树脂包埋, LKB 超薄切片机切片, 醋酸铀-柠檬酸铅双染色, EM-100S 透射电镜观察拍片。

三、感染试验

将孢子液稀释成 1×10^7 孢子/ml, 饲喂 2—5 龄蝗蛹, 每组处理 30 头, 逐日统计病死虫数, 再将病死虫尸分别捣碎, 制水压片, 逐个镜检, 查出有孢子者为感病虫尸。孢子量测定: 对每头病死虫尸提取孢子液, 纯化后用血球计数板计数。

实 验 结 果

一、形态与发育过程

微孢子虫接种东亚飞蝗产生裂殖体近圆形, 有单核、双核、四核 (图版 1: 1—6)。Canning (1962) 观察到产孢体为单核, 呈椭圆形, 经分裂成双核后发育为成熟孢子。作者在实验中观察到产孢体为双核, 再分裂成双核子代, 发育为成熟孢子 (图版 1: 7)。孢子母细胞呈长椭圆形, 双核 (图版 1: 8), 进一步发育

成为成熟孢子。

成熟孢子椭圆形, 大小不一, 平均 $2.4 \times 5.2 \mu\text{m}$ 。特殊狭长孢子, 长度可为正常孢子长度的 2—3 倍, 扫描电镜下可看到孢子表面有花壳样的刻痕 (图版 1:10), 孢子一端呈圆弧形, 另一端顶部有凹陷。

透射电镜下观察孢子纵切面可见到孢子内部微细结构 (图版 1:11)。极丝横切面呈三圈 (图版 1:12), 每侧有 17—19 个极丝圈, 呈单层排列。位于孢子中部有 2 个细胞核, 两侧为内质网。孢子后端有一个后极胞, 孢子前端极丝两侧有称为极体的多层膜状结构。

我们在刚刚死亡的虫体腔内观察到很多释放极丝的孢子 (图版 1:9), 极丝从孢子一端翻出, 长度为 $120 \mu\text{m}$ 左右, 不少极丝前端有一小块孢原质。

二、致病作用与孢子产生情况

用微孢子虫感染东亚飞蝗, 初期无明显外部染病特征, 当蝗蛹进入老龄或成虫期后, 感病严重的虫体腹部发软、肿胀、呈红褐色; 皮脱不下来或死于脱下的皮蜕内; 翅皱缩; 发育期拖长, 最后死亡。健虫脂肪体黄色透明; 片状; 病生脂肪体则变得不透明, 呈乳白色 (图版 1:13), 其中充满大量孢子。

2 龄蝗蛹接种微孢子虫, 大多数个体死于 5 龄前; 3 龄蝗蛹接种后, 则有少数个体可发育到成虫, 4—5 龄蝗蛹接种后大部分能发育到成虫, 但多成为带病成虫。

用不同浓度的微孢子虫饲喂 4 龄蝗蛹, 经 10—15 天在寄主体内出现成熟孢子, 25—30 天可见大量孢子产生。从表 1 中即可看到孢子在寄主体内大量生成情况, 其中单头蝗虫可产生 4×10^8 孢子。

表 1 4 龄蝗蛹接种不同浓度孢子液产生孢子量情况表

孢子量 试虫 头数		产生孢子的总头数			
接种浓度 (孢子数/ml)		$>4 \times 10^8$ 孢子/头 试虫数	$>1 \times 10^8$ 孢子/头 试虫数	$>1 \times 10^8$ 孢子/头 试虫数	$<1 \times 10^8$ 孢子/头 试虫数
1×10^5	30	5	1	2	10
1×10^6	30	8	7	3	11
1×10^7	30	6	6	3	13

实验表明, 蝗虫微孢子虫能在东亚飞蝗体内增殖, 产生大量孢子, 飞蝗是一个较好的繁殖寄主, 这为研究利用该病原物提供了可能性。

参 考 文 献

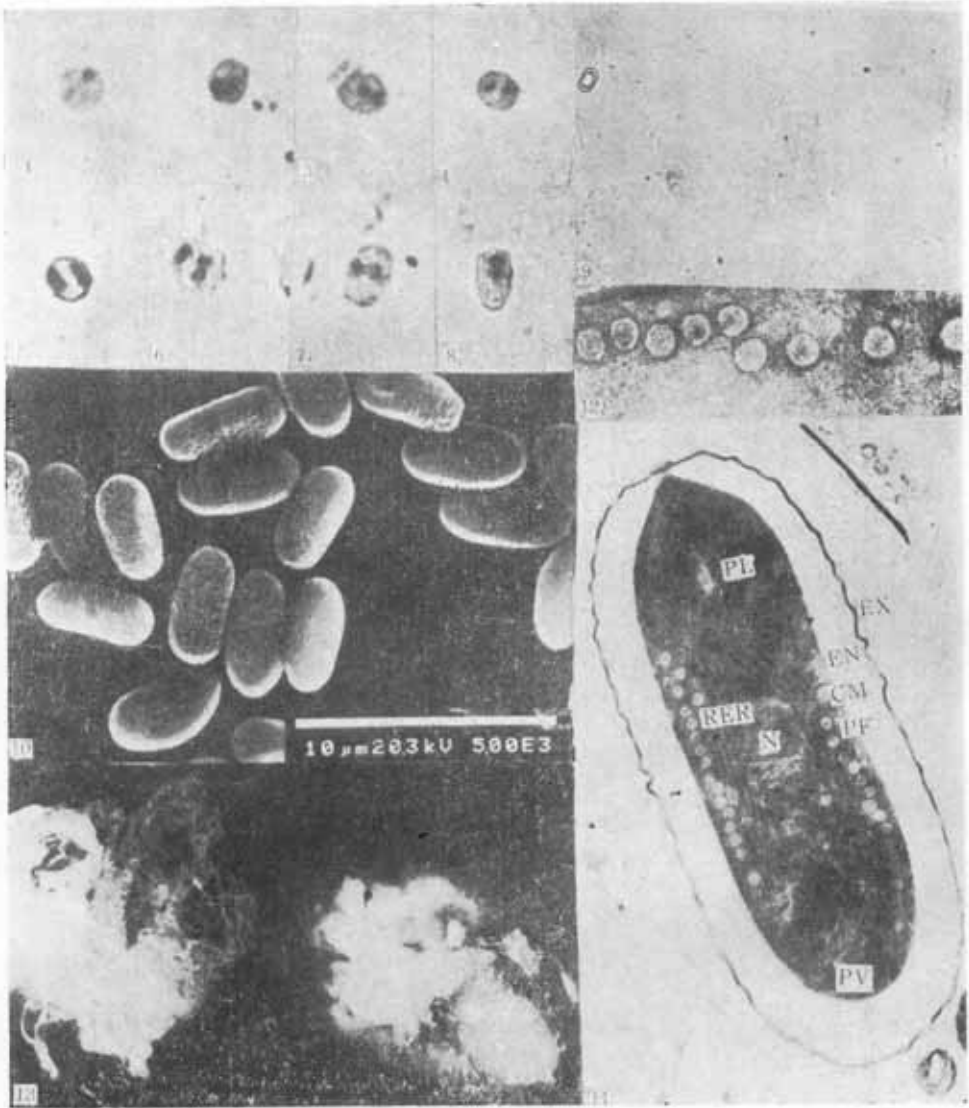
- Canning, E. U. 1953 A new microsporidian *Nosema locustae* n. sp. from the fat body of the African migratory locust, *Locusta migratoria migratorioroides* R. F. *Parasitol.* 43: 287—90.
- Conning E. U. 1962 The life cycle of *Nosema locustae* Canning in *Locusta migratoria migratorioroides* (Reiche and Fairmaie), and its infectivity to other hosts. *J. Insect Pathol.* 4: 234—47.
- Henry, J. E. 1971 Experiment application of *Nosema locustae*. for control of grasshoppers. *J. Invertebr. Pathol.* 18: 389—94.
- Henry, J. E., R. Tiahrt & E. A. Oma, 1973 Importance of timing, spore concentrations, and spore carrier levels in application of *Nosema locustae* (Microsporida: Nosematidae) for control of grasshopper. *J. Invertebr. Pathol.* 21: 263—72.

**EXPERIMENTAL INFECTION OF *NOSEMA LOCUSTAE* CANNING IN
THE ORIENTAL MIGRATORY LOCUST [*LOCUSTA MIGRATORIA*
MANILENSIS (MEYEN)]**

WANG LI-YING YAN YU-HUA KUAN ZHI-HU

(Department of Plant Protection, Beijing Agricultural University, Beijing)

更正：本刊 1988 年 31 卷第 1 期第 80 页图 1 的图应与 81 页图 3 的图对换。



1. 单核裂殖体 ×1584
- 2—4. 双核裂殖体, 显示核分裂过程 ×1584
- 5—6. 四核裂殖体 ×1584
7. 产孢体 ×1584
8. 孢子母细胞 ×1584
9. 极丝, 端部为孢原质 ×360
10. 成熟孢子, 表面有花生壳样花纹
11. 成熟孢子, N: 核, RER: 粗糙内质网, EX: 孢子外壁, EN: 孢子内壁,
CM: 细胞质膜, PL: 极体, PF: 极丝, PV: 后极泡
12. 极丝横切面 ×40000
13. 左图为健虫脂肪体, 片状, 黄色透明; 右图为病虫脂肪体, 团块状, 乳白色不透明